

⑫ 公開特許公報(A)

昭62-221698

⑮ Int. Cl.

C 07 K 5/02
A 61 K 37/02

識別記号

ACS

庁内整理番号

A-8318-4H
8615-4C

⑬ 公開 昭和62年(1987)9月29日

審査請求 未請求 発明の数 1 (全5頁)

⑭ 発明の名称 グルタチオン誘導体

⑯ 特 願 昭61-63191

⑰ 出 願 昭61(1986)3月19日

⑱ 発 明 者 岩 尾 順 一 宝塚市野上4-7-27

⑱ 発 明 者 磯 正 堺市丈六197-7

⑱ 発 明 者 河 嶋 洋 一 京都市西京区大原野東境谷町1-1番地4-504

⑲ 出 願 人 参天製薬株式会社 大阪市東淀川区下新庄3丁目9番19号

⑳ 代 理 人 弁理士 滝川 敏雄

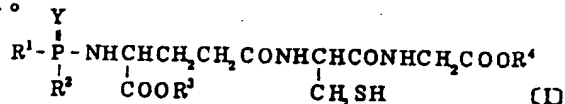
明 細 書

1. 発明の名称

グルタチオン誘導体

2. 特許請求の範囲

一般式〔I〕で表わされる化合物およびその塩類。



(式中、 R^1 および R^2 は同一か又は異なつて、低級アルキル基、ヒドロキシ基、低級アルコキシ基、フェニル基、フェニルオキシ基、フェニル低級アルキル基又はフェニル低級アルコキシ基を示し、フェニル基、フェニルオキシ基、フェニル低級アルキル基およびフェニル低級アルコキシ基のフェニル環はさらに低級アルキル基、ヒドロキシ基、低級アルコキシ基、低級アルカノイルオキシ基、ニトロ基およびハロゲン原子から選択される一つ又は複数の基で置換されていてもよい。

R^3 および R^4 は同一か又は異なつて、水素原子、

低級アルキル基、フェニル基又はフェニル低級アルキル基を示し、フェニル基およびフェニル低級アルキル基のフェニル環はさらに低級アルキル基、ヒドロキシ基、低級アルコキシ基、低級アルカノイルオキシ基、ニトロ基およびハロゲン原子から選択される一つ又は複数の基で置換されていてもよい。

Yは酸素又は硫黄を示す。)

3. 発明の詳細な説明

「産業上の利用分野」

本発明化合物は肝障害抑制効果を有し、肝疾患治療剤として有用である。

「従来技術および発明が解決しようとする問題点」

グルタチオンは、生体内にもつとも多く存在するチオール化合物であり、特に解毒機能に重要な肝に高濃度に存在し、そのSH基の化学的特性より解毒代謝や酸化還元状態の調節に重要な役割を果たしていることはよく知られている。臨床医学的にも各種肝疾患、薬物や重金属によ

る中毒症、アレルギー疾患などの治療に広く用いられているが、多量のグルタチオンが使用されているのが現状である。各種肝疾患の治療に際し、その目的は肝細胞内グルタチオンレベルを維持し、解毒、代謝機能を改善することにあるが、グルタチオンは肝に取り込まれず、他臓器で完全水解されたあとアミノ酸として膜輸送され、血中から肝細胞質内に入り、グルタチオンが再合成される。このことは、臨床的にグルタチオンを投与し、肝細胞内グルタチオンレベルを直接上昇・維持させる目的にはきわめて不利である。

「問題を解決する為の手段および作用」

これらの問題点を解決する為、グルタチオンおよびそのエステル体のN-末端アミノ基をリン酸アミド化した一般式〔I〕で表わされる化合物を合成し、それらの肝臓への取り込みを検討した結果、本発明化合物がグルタチオンより優れた肝障害抑制効果を有することを見い出した。

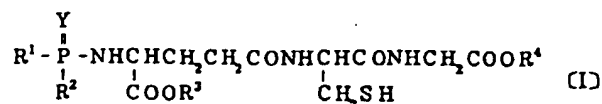
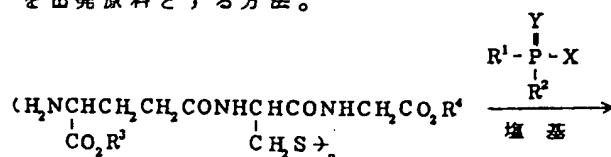
よい。

Yは酸素又は硫黄を示す。以下同じ。）

上記各グループについて、さらに詳細に説明すると、低級アルキル基とはメチル基、エチル基、プロピル基、ヘキシル基等の1～6個の炭素原子を有するアルキル基を示し、低級アルコキシ基とはメトキシ基、エトキシ基、プロポキシ基、ヘキシルオキシ基等の1～6個の炭素原子を有するアルコキシ基を示し、低級アルカノイルオキシ基とはアセチルオキシ基、プロピオニルオキシ基、ヘキサノイルオキシ基等の2～6個の炭素原子を有するアルカノイルオキシ基を示し、ハロゲン原子とはフッ素、塩素、臭素及びヨウ素を示す。

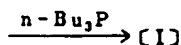
本発明化合物の製造法を図で簡単に説明すると下記の方法で示される。

(1) 酸化型グルタチオンあるいはそのエステル体を出発原料とする方法。

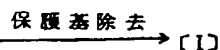
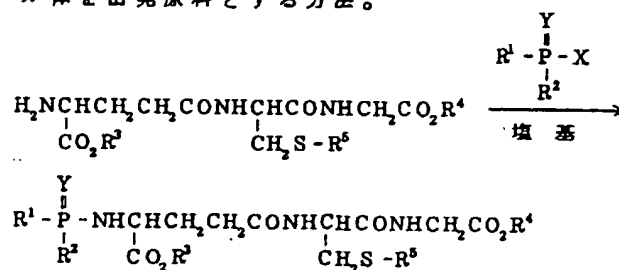


(式中、R¹およびR²は同一か又は異なつて、低級アルキル基、ヒドロキシ基、低級アルコキシ基、フェニル基、フェニルオキシ基、フェニル低級アルキル基又はフェニル低級アルコキシ基を示し、フェニル基、フェニルオキシ基、フェニル低級アルキル基およびフェニル低級アルコキシ基のフェニル環はさらに低級アルキル基、ヒドロキシ基、低級アルコキシ基、低級アルカノイルオキシ基、ニトロ基およびハロゲン原子から選択される一つ又は複数の基で置換されていてもよい。

R³およびR⁴は同一か又は異なつて、水素原子、低級アルキル基、フェニル基又はフェニル低級アルキル基を示し、フェニル基およびフェニル低級アルキル基のフェニル環はさらに低級アルキル基、ヒドロキシ基、低級アルコキシ基、低級アルカノイルオキシ基、ニトロ基およびハロゲン原子から選択される一つ又は複数の基で置換されていても



(2) SH基保護グルタチオンあるいはそのエステル体を出発原料とする方法。



前記反応式中、Xはハロゲン原子を示し、R⁵はトリチル基等の保護基を示す。トリチル基等の保護基の除去は常法により行なうことができる。

式〔I〕で表わされる化合物は、必要に応じて、ナトリウム塩、カリウム塩等の医薬として許容さ

ml)をS-(トリチル)グルタチオン ベンジル エチルエステル(3.0 g)のDMF(10 ml)溶液に0℃以下で同時滴下後、氷冷下一夜さらに室温で2時間攪拌する。不溶物を除去し、母液を減圧濃縮する。残渣を酢酸エチルに溶解し、N塩酸、5%炭酸水素ナトリウム水溶液、水の順で洗浄後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮する。残渣をシリカゲルカラムクロマトにより精製し、標記化合物3.80 g(91%)を油状物として得る。

$[\alpha]_D^{25} - 4.3^\circ$ (c=1.0, アセトン)

IR(film, cm^{-1}): 1739, 1656, 1209, 1003.

(ii) N-(ジベンジルホスホリル)グルタチオン ベンジル エチルエステルの製造

(i)で得られたN-(ジベンジルホスホリル)-S-(トリチル)グルタチオン ベンジル エチルエステル(3.71 g)のDMF(20 ml)溶液に硝酸銀(2.04 g)およびビリジン(0.97 ml)のメタノール(100 ml)溶液を加え、遮光下室

IR: 1735, 1655, 1225, 1033.

・ N-[ビス(4-ブロモベンジル)ホスホリル]グルタチオン ジエチルエステル

IR: 1735, 1631, 1227, 1011.

実施例3.

N-(ジベンジルホスホリル)グルタチオンの製造

(i) N-(ジベンジルホスホリル)-S-(トリチル)グルタチオンの製造

ジベンジルヒドロゲンホスファイト(2.30 g)、スルフリルクロリド(0.65 ml)、四塩化炭素(20 ml)より実施例1の(i)と同様の操作によりジベンジリン酸クロリドの四塩化炭素溶液を調製する。この溶液およびトリエチルアミン(2.2 ml)をS-(トリチル)グルタチオン(2.20 g)のDMF(20 ml)溶液に0℃以下で同時滴下し、氷冷下3時間攪拌する。不溶物を除去し、母液を減圧濃縮する。残渣にクロロホルムおよび水を加えN塩酸を加えて酸性にした後、クロロホルムで抽出する。水および飽和食塩水で洗浄後、

室温で3.5時間攪拌する。析出物を除去し、これをDMF(20 ml)およびメタノール(20 ml)の混液に懸濁させ、2-メルカプトエタノール(4.2 ml)を加え、室温で1時間攪拌する。析出物を除去し、母液を減圧濃縮する。残渣を酢酸エチルに溶解し、水洗後、無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮する。残渣を再結晶し、標記化合物2.25 g(82%)を得る。

融点131-132℃(酢酸エチル-n-ヘキサン)

$[\alpha]_D^{25} - 10.3^\circ$ (c=1.0, DMSO)

IR: 1729, 1631, 1235, 1020.

実施例2と同様の方法で以下の化合物を得ることができる。

・ N-(ジエチルホスホリル)グルタチオン ベンジル 4-メトキシベンジルエステル(R^3 =ベンジル, R^4 =4-メトキシベンジル)

IR: 1725, 1659, 1222, 1015.

・ N-(O-エチル-P-フェニルチオホスホリル)グルタチオン ジエチルエステル(R^1 =エトキシ, R^2 =フェニル)

無水硫酸マグネシウムで乾燥し、減圧濃縮する。残渣油状物をエーテル中で結晶化させ、標記化合物2.01 g(62%)を得る。

融点170-174℃(分解)

$[\alpha]_D^{25} - 2.9^\circ$ (c=1.0, CHCl_3)

IR: 3276, 1647, 1517, 1209.

(ii) N-(ジベンジルホスホリル)グルタチオンの製造

(i)で得られたN-(ジベンジルホスホリル)-S-(トリチル)グルタチオン(1.62 g)のDMF(10 ml)溶液に硝酸銀(1.02 g)およびビリジン(0.5 ml)のメタノール(45 ml)溶液を加え、遮光して室温下1時間攪拌する。析出物を除去し、これをDMF(15 ml)およびメタノール(15 ml)の混液に懸濁させ、2-メルカプトエタノール(2.1 ml)を加え、室温下1時間攪拌する。析出物を除去し、母液を減圧濃縮する。残渣をアセトン中で固化させ、標記化合物0.59 g(52%)を得る。

融点82-85℃(分解)

$[\alpha]_D^{25} - 14.3^\circ$ (c=0.5, DMSO)

IR: 3256, 1636, 1527, 1214.

実施例3と同様の方法で以下の化合物を得ることができる。

- N-(ジエチルホスホリル)グルタチオン
融点 89-92℃(分解)

$[\alpha]_D^{25} - 10.8^\circ$ (c=1.0, DMSO)

IR: 3244, 1635, 1519, 1213.

- N-(ジフェニルチオホスフィニル)グルタチオン

IR: 3267, 1632, 1510.

- N-[ビス(4-ニトロベンジル)ホスホリル]グルタチオン

IR: 3295, 1638, 1520, 1232.

- N-(ホスホリル)グルタチオン

IR: 3250, 1640, 1515, 1210.

薬理試験

肝障害抑制作用を調べるには、肝障害を起こさせる薬物を動物に投与し、それによる実験的肝障害を抑制する効果を調べることによって行われる。

化合物Ⅱ: N-(ジベンジルホスホリル)グルタチオン ベンジル エチルエステル(本願化合物, R^3 =ベンジル, R^4 =エチル)

実験例

体重170~200gの雄性ウイスター系ラットを1群3-5匹とし、17時間絶食させたのち実験に用いた。化合物Ⅰ、Ⅱは体重1kgあたり300mgを経口投与した。四塩化炭素は各化合物の投与60分後、体重1kgあたり0.25ml(オリーブ油溶液として、体重1kgあたり5ml)を腹腔内投与した。また、対照として体重1kgあたり5mlのオリーブ油溶液のみを腹腔内投与した。そして四塩化炭素投与24時間後に、血清トランスアミナーゼを測定した。

その結果、表に示した様に対照群に比し、グルタチオン(化合物Ⅰ)投与群では若干の抑制傾向が見られたにすぎないのに対し、化合物ⅡではS-GOTならびにS-GPTの有意な抑制が認められた。

実験的肝障害を起こす薬物として、四塩化炭素、チオアセトアミド、プロモベンゼン、パラセタモール、D-ガラクトサミン等があるが、特に四塩化炭素肝障害は炭素-塩素結合がチクロームP-450で切断され、毒性の強いフリーラジカル($CCl_3\cdot$)を生じ、このフリーラジカルが肝細胞膜蛋白のチオール基と結合したり、膜の脂質過酸化反応を促して障害を起こすものと考えられている[Biochem. Pharmacol. 21, 49(1972), 同25, 2163(1976)]。

本発明においては、肝障害抑制効果を検索するため、実験的肝障害を起こす薬物として四塩化炭素を用い、本化合物の肝障害抑制効果を血清トランスアミナーゼ(S-GOTおよびS-GPT)を指標として検討した。

本願化合物の代表例としてN-(ジベンジルホスホリル)グルタチオン ベンジル エチルエステル(R^3 =ベンジル, R^4 =エチル)を用い、比較薬物としてグルタチオンを用いて実験を行なった。

化合物Ⅰ: グルタチオン(比較薬物)

表

血清トランスアミナーゼ 化合物	S-GOT	S-GPT
	カルメン単位/ml (抑制率%)	カルメン単位/ml (抑制率%)
対照群	13520±2735	6423±2304
化合物Ⅰ	8284±3196 (39)	5142±1446 (20)
化合物Ⅱ	7486±3074※(45)	3140±1145※(51)

※: $P < 0.05$

各数値は平均値±標準偏差を示す。

「発明の効果」

グルタチオン誘導体である本発明化合物はグルタチオンより優れた肝障害抑制効果を有し、肝障害治療剤として有用である。

出願人 参天製薬株式会社

代理人 滝川敏雄

CLIPPEDIMAGE= JP362221698A
PAT-NO: JP362221698A
DOCUMENT-IDENTIFIER: JP 62221698 A
TITLE: GLUTATHIONE DERIVATIVE

PUBN-DATE: September 29, 1987

INVENTOR-INFORMATION:

NAME

IWAO, JUNICHI

ISO, TADASHI

KAWASHIMA, YOICHI

ASSIGNEE-INFORMATION:

NAME

SANTEN PHARMACEUT CO LTD

COUNTRY

N/A

APPL-NO: JP61063191

APPL-DATE: March 19, 1986

INT-CL (IPC): C07K005/02; A61K037/02

US-CL-CURRENT: 530/331

ABSTRACT:

NEW MATERIAL: The compound of formula I (R¹ and R² are lower alkyl, hydroxyl, lower alkoxy, phenyl, phenyloxy, etc.; R³ and R⁴ are H, lower alkyl, phenyl, phenyl-lower alkyl, etc.; Y is O or S) or its salt.

EXAMPLE: N-(dibenzylphosphoryl)glutathione dibenzyl ester.

USE: A remedy for hepatic diseases.

PREPARATION: The compound of formula I can be produced e.g. by reacting an oxidized glutathione derivative of formula II (e.g. oxidized glutathione tetrabenzyl ester) with a phosphoric acid halide compound of formula III (X is halogen) (e.g. dibenzylphosphoric acid chloride) and reducing the reaction product with tri-n-butylphosphine.

COPYRIGHT: (C)1987,JPO&Japio